

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-174778

(P2002-174778A)

(43)公開日 平成14年6月21日(2002.6.21)

(51)Int.Cl.⁷

G 0 2 B 21/32

B 2 3 K 26/00

26/02

G 0 1 N 1/28

識別記号

3 2 0

F I

テマコト⁷(参考)

G 0 2 B 21/32

2 G 0 5 2

B 2 3 K 26/00

3 2 0 E 2 H 0 5 2

26/02

C 4 E 0 6 8

G 0 1 N 1/28

F

J

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 8 頁)

(21)出願番号

特願2001-266008(P2001-266008)

(22)出願日

平成13年9月3日(2001.9.3)

(31)優先権主張番号

1 0 0 4 3 5 0 6 . 8

(32)優先日

平成12年9月1日(2000.9.1)

(33)優先権主張国

ドイツ (DE)

(71)出願人

50012/900

ライカ ミクロジュステムス ヴェツラー
ゲーエムベーハー

ドイツ連邦共和国 D-35578 ヴェツラ
ー エルンストーライツーシュトラーセ
17-37

(72)発明者

ミヒヤエル ガンザー
ドイツ連邦共和国 D-35398 ギーセン
ヴァッホルダー・ブッシュ 11

(74)代理人

100080816

弁理士 加藤 朝道 (外2名)

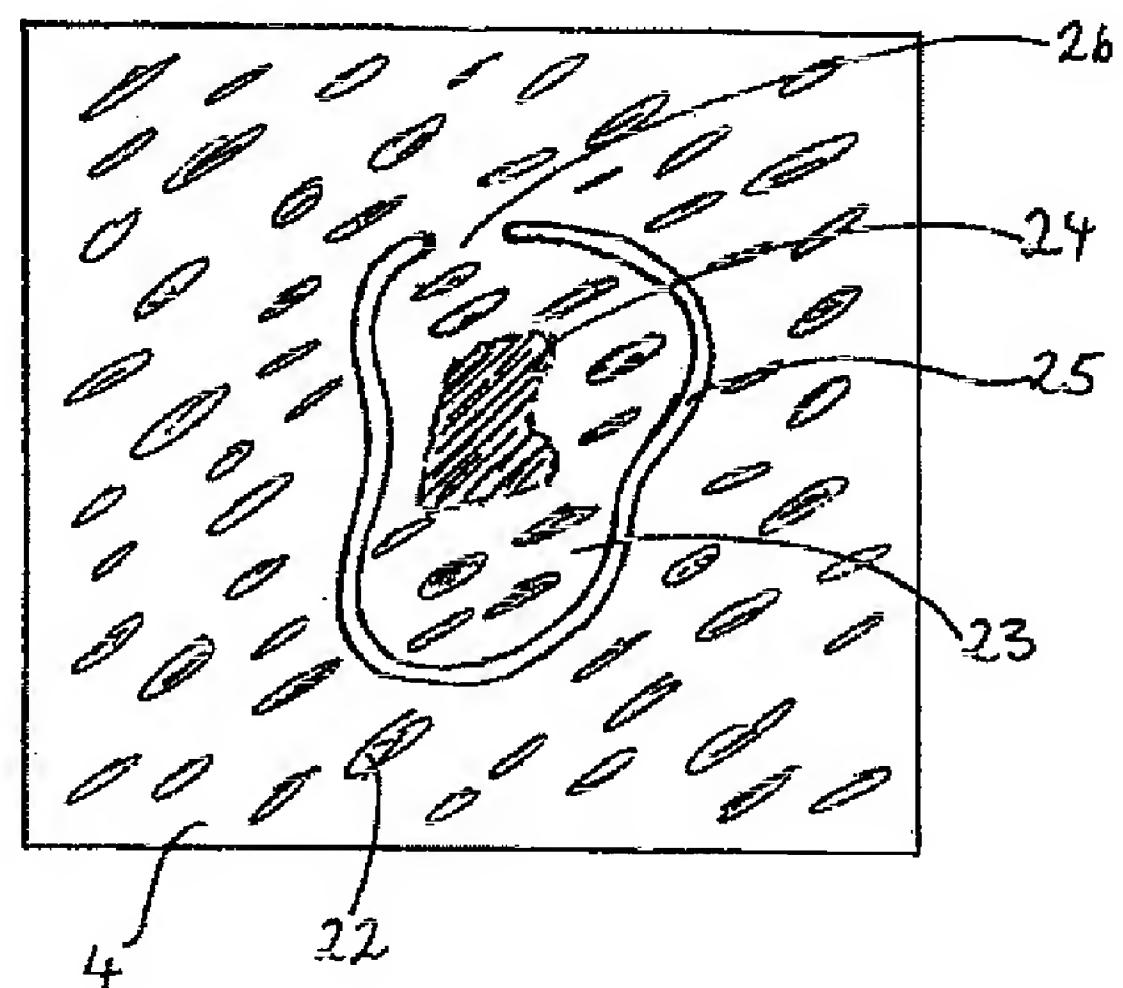
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 レーザ顕微切断のための方法及び装置

(57)【要約】

【課題】信頼性があり、便利な様式で、試料から試料視野(部分)を切り取るレーザ顕微切断の方法を提供する。

【解決手段】試料(4)の関心領域(23)のレーザ顕微切断のための方法と装置において、第一ステップで、関心がある試料領域(23)を取り囲む閉でない切断線(25)がレーザ光線(7)によって生成される。切断線(25)の閉でない所には、関心がある試料領域(23)を周囲の試料(4)に結合するウェブ(26)が残る。第二ステップで、ウェブ(26)がそこに向けられた単一レーザパルスを用いて切断され、それによって切断線が完結する。かくて、関心がある試料領域(23)が試料(4)から分離され、重力の作用によって収集容器(19)中に落ちる。



【特許請求の範囲】

【請求項1】試料保持器に保持された試料の関心がある試料領域のレーザ顕微切断方法であって、次のステップ。

- 所定の幅の安定ウェブ(26)が切断線(25)の始端と終端の間に残り、それを介して関心がある試料領域(23)が回りの試料(4)と結合するように、所定の切断幅を有する合焦レーザ光線によって、関心がある試料領域(23)をほぼ取り囲む部分的に閉じてない切断線(25)に沿って切断すること、及び
- 切断分離後に関心がある試料領域(23)が重力の作用によって落下するように、ウェブ(26)上に向けられた、前の切断線と比較して拡大された切断幅を有する合焦レーザ光線(7)の單一レーザパルスを用いてウェブ(26)を切断分離すること、を有することを特徴とするレーザ顕微切断方法。

【請求項2】関心がある資料領域(23)を有する試料(4)を観察するために、光軸(10)を規定する少なくとも一つの対物レンズ(9)を有し、レーザ光線(7)を発生するレーザ(6)を有し、レーザ光線(7)を対物レンズ(9)に結合させる少なくとも一つの光学系(13)を備えた顕微鏡(1)を有する顕微鏡的試料のレーザ切断装置であって、

- 所定の幅の安定ウェブ(26)が切断線(25)の始端と終端の間に残り、それを介して関心がある試料領域(23)が回りの資料(4)と結合するように、レーザ光線(7)と試料(4)の間に相対運動を発生させて、関心がある試料領域(23)をほぼ取り囲む部分的に閉じてない切断線(25)を達成するための切断線制御装置(2;31)が顕微鏡に配属されており、且つ
- レーザ光線(7)の切断幅が拡大され、單一合焦レーザパルスが該ウェブ(26)上に向けられ、該ウェブ(26)を切断分離する、ウェブ(26)の切断分離手段を有する、

ことを特徴とする顕微鏡的試料のレーザ切断装置。

【請求項3】レーザ光線(7)が定常で、切断線制御装置が切断の間に定置のレーザ光線(7)に対し相対的に試料(4)を動かす変位可能なX-Yステージを具備する、請求項2記載の装置。

【請求項4】切断の間にレーザ光線(7)を定置の試料(4)に対し相対的に動かすレーザ走査装置(31)を切断線制御装置が具備する請求項2記載の装置。

【請求項5】レーザ光線(7)のための自動焦点調節装置がレーザ(6)に配属されている請求項2記載の装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は試料保持器に保持されている試料の関心がある試料領域のレーザ顕微切断のための方法と装置に関する。

【0002】「顕微切断」(Mikrodissektion)とは、生物学や医学の分野において、微小な合焦レーザ光線によって微小片が一般的に概して平らな試料(例えば、細胞又は組織部)から切り取られる方法を言う。切り取られた断片はしたがって更に生物学的又は医学的(例えば、組織学的)調査のために利用できる。

【0003】

【従来の技術】US特許5,998,129はこの種の方法とレーザ顕微切断のための装置について述べている。試料は、固定した、平面支持器、例えば、通常実験室で使われるガラス試料スライド上に張り付けられた、高分子支持フィルム上に配置される。既述の方法は2ステップで動作する。第一ステップでは、関心がある資料領域—その中に例えば、選択された細胞群又は組織学的切片が存在する—がレーザ光線によって切り取られる。そのため、レーザ光線の切断線は完全な曲線を関心がある試料領域の周りに描く。切断後、関心がある切り取った試料領域はそのときまだその基材に付着しているか又は試料スライド上に留まっている。かくて、第二ステップでは、付加的なレーザ発射が関心がある資料領域に向けられ、それによって関心がある試料領域がレーザ光線の方向に射出(ないし押出)されて収集容器中に入る。関心がある切り取った試料領域が射出されるので、本方法はそれゆえ「レーザ射出(catapulting)」として専門家の間では略称されている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本方法の欠点は方法の第一のステップで既に生じている。切断線が閉じる(完結する)直前に、狭いウェブ(細い落片)のみによって、切り取った試料視野が回りの試料に結合された状態になる。ウェブ中の荷電または機械的応力の結果、この切断の段階で、関心がある切り取り試料領域がしばしばスwinging・アウトする、すなわちレーザ光線の焦点面から外れるか又は残りの支持フィルムの後ろに行く。それによって、スwinging・アウトした切り取り試料領域の切断を完了してそれをレーザ照射によって運び去ることが困難であるか又は不可能にさえなる。

【0005】本方法の更なる欠点は、実際に方法の第二のステップ(レーザ誘導輸送(laser-induced transport))でレーザを焦点ぼかししなければならないという事実である。実験室での研究では、各個々の切り出し標本視野の除去の場合、(例えば、試料を支持している試料ステージの高さを調整することによって)毎度レーザを焦点ぼかししなければならず、個々にレーザの「輸送発射(transport shot)」を実行しなければならないので、更に試料を処理するためにはレーザを再び焦点調節しなければならない。利用者にとっては、特に多数の切断に関する実験室調査の状況においては、この手順は煩わしく、時間を浪費する。

【0006】それゆえ、信頼性があり、便利な様式で、

試料から試料視野（部分）を切り取るレーザ顕微切断のため方法ないし装置を提供することが本発明の目的である。

【0007】

【発明による課題の解決手段】本発明の一視点によれば、試料保持器に保持された試料の関心がある試料領域のレーザ顕微切断方法であって、次のステップ

- a) 所定の幅の安定ウェブが切断線の始端と終端の間に残り、それを介して関心がある試料領域が回りの試料と結合するように、所定の切断幅を有する合焦レーザ光線によって、関心がある試料領域をほぼ取り囲む部分的に閉じてない切断線に沿って切断すること、及び
- b) 切断後に関心がある試料領域が重力の作用によって落下するように、ウェブ上に向けられた、前の切断線と比較して拡大された切断幅を有する合焦レーザ光線の単一レーザパルスを用いてウェブを切断分離すること、を有することを特徴とするレーザ顕微切断方法が提供される。

【0008】本方法によれば、最初の切断の間の所定の切断幅がウェブを切断分離する（切り離す）ときのレーザ光線の切断幅よりもはるかに狭いならば、有利であることが分かる。最初の切断の間の特定の切断幅は、ウェブを切断分離するときのレーザ強度と比較してレーザ強度を減衰させることによって生成することができる。この場合、ウェブを切断分離するために、最大出力のレーザのレーザパルスを発生することができる。

【0009】レーザ光線の開口は、絞りによっても減少できる。試料上のレーザ光線の切断幅は、それによって変更される。ウェブを切断分離するときのレーザ光線の切断幅が少なくともウェブの幅に対応する（同等以上）ならば、特に効果的であることが分かる。好都合にも、单一レーザパルスはウェブの中心に向けることができる。

【0010】標本視野から試料を確実に切り取り、レーザ光線が焦点ぼけせずに試料を除去するような、レーザ顕微切断のための装置について述べることが本発明の異なる（第2の視点としての）目的である。

【0011】即ち、本発明の第2の視点において、関心がある資料領域を有する試料を観察するために、光軸を規定する少なくとも一つの対物レンズを有し、レーザ光線を発生するレーザを有し、レーザ光線を対物レンズに結合させる少なくとも一つの光学系を備えた顕微鏡を有する顕微鏡的試料のレーザ切断装置であって、

- a) 所定の幅の安定ウェブが切断線の始端と終端の間に残り、それを介して関心がある試料領域が回りの資料と結合するように、レーザ光線と試料の間に相対運動を発生させて、関心がある試料領域をほぼ取り囲む部分的に閉じてない切断線を達成するための切断線制御装置

（2；31）が顕微鏡に配属されており、且つ

- b) レーザ光線の切断幅が拡大され、单一合焦レーザパ

ルスが該ウェブ上に向けられ、該ウェブを切断分離する、ウェブの切断分離手段を有する、ことを特徴とする顕微鏡的試料のレーザ切断装置が提供される。

【0012】従来は専門家の間では一般に、レーザ射出なしでは試料から関心がある試料領域を除く（分離する）ことは不可能であると考えられていた。本発明に従った方法ないし装置は、今や初めて関心がある試料領域を切り取り、材料に損傷を与えるようなレーザ照射（衝撃）なしで、試料からそれを分離する可能性を提供する。

【0013】

【発明の実施の形態】そのため、種々のレーザパラメータと種々のレーザ光線切断幅による二つのプロセスステップをもって、試料のレーザ切断が実行される。そのためには、試料の適切な作成・準備が肝要である。このため、関心がある試料領域が切り取られる、被検試料は、非常に薄いプラスチックフィルム上に調製される。これらのプラスチックフィルムの厚さは、1から2μmの間のオーダである。例えば、PET（ポリエチレンテレフタレート）フィルムを用いることができる。しかし、最良の切断結果はPENフィルムを用いて得られている。これらを用いると、狭くて、同時に安定なウェブを生成することが可能である。切断の間にウェブの幅がレーザの切断幅の約3乃至約5倍に対応するならば、本方法が特に有利であることが証明されている。プラスチックフィルムは既知の態様で試料保持器に張り付け保持される。例えば、これは通常実験室で用いられる、ガラスの試料スライドにすることができる。しかし、（形や材料の点から見て）他の試料保持器も考えられる。試料保持器はX-Yステージ上に載っており、種々の試料領域を観察したり選択したりすることができる。通常は本装置は関心がある切り出し試料領域を集めるため、試料の下又は近傍に少なくとも一つの容器を持っている。

【0014】本発明に従った装置の他の一実施形態は、定置のレーザ光線を持っている。切断線制御装置は、切断の間に定置のレーザ光線に対し相対的に試料を動かす変位可能なX-Yステージを具備している。この実施形態においては、正確な切断線と適當な幅のウェブを生成するために、X-Yステージの位置精度に関する非常に高度な要求が求められる。X-Yステージはモータ化された方式で動かされることが多い。

【0015】本発明に従ったもう一つの実施形態では、切断線制御装置は切断の間に静止（定置）試料に対し相対的にレーザ光線を動かすレーザ走査装置を具備している。そのため、上に試料保持器と試料が載っているX-Yステージは動かされない。切断線はもっぱら試料に対するレーザ光線の偏向（deflection）のみから生じる。

【0016】装置に関する特に有利な実施形態は、レーザの動作パラメータを制御するレーザ制御装置がレーザと組み合わされているものである。例えば、これらの動

作パラメータはレーザ出力とレーザ開口であり、これらはレーザ切断幅を決定する。レーザに対して自動焦点調節装置を附加的に備えることができる。きれいに切断するためには、種々の厚さの試料にも、信頼できる焦点調節を保証できる。

【0017】もう一つの有利な実施形態では、切断線制御装置とレーザ制御装置を制御するために用いられる計算機が顕微鏡に組み合わされている。全ての方法の自動化がそれによって可能である。

【0018】本装置の他の実施形態では、切断線の選択の手段、又は利用者による切断線とウェブの位置の選択の手段が与えられる。更に、利用者によるウェブの幅の選択とウェブの位置の選択に対する手段を備えることができる。この選択の可能性によって、利用者は特に切断の前に関心がある正しい試料領域を選択することができ、同時に破損から試料の重要な部分を保護することができる。例えば、利用者は、試料の重要でない細胞構造上に切断線を置くことができるので、関心がある試料領域内の関心がある細胞構造を切断の間に保護することができる。

【0019】更なる実施形態では、レーザ光線の切断幅の自動拡大の手段と、その切断幅を持つ、ウェブ上に向けられた、單一レーザパルスの自動実行のための手段が顕微鏡と組み合わされる。

【0020】本発明に従った方法は、切断の間に関心がある試料領域を振り外す（スwing・アウェイ）ことを防ぐ利点を持っている。試料の問題がない切断が、それによって可能である。更に、ウェブの切断により、試料から関心がある切断試料領域の信頼できる分離が同時に可能になる。関心がある切断試料領域はそのとき集めるだけでよい。本方法と装置の自動化により、型にはまつた実験室操作での利用が可能になる。

【0021】しかし、本方法の本質的な利点は、最初の切断線形成とウェブの切断分離と両方が切断線とウェブ上に合焦されたレーザ光線を用いて達成される、という事実から成る。その結果、両方のステップで、切断線によって囲まれた関心がある試料領域はレーザ照射に起因する、起こり得る損傷から保護される。この様式では、既知の方法とは対照的に、関心がある試料領域にレーザ光が向けられない。細胞構造内又は関心がある試料領域内の遺伝情報中の光に関連する変化が排除されるので、生物試料についてはこれは特に非常に重要な局面（利点）となる。更に、繰り返してのしたがって時間を浪費するような焦点合わせや焦点外しなじで、本発明に従った方法が動作するということは、実験室作業では有利であることが分かる。

【0022】

【実施例】本発明の実施例について略図を参照して以下で一層詳細に述べる。

【0023】図では、同一装置要素は同一参照番号が付

けられている。図1は、定置のレーザ光線によって動作するレーザ切断のための装置と、それに対して相対的に動く試料が描かれている。この装置はモータ駆動された様式で変位できるX-Yステージ2を有する顕微鏡1を具備している。X-Yステージ2は、検査又は切断すべき試料4が取り付けられる、試料保持器3を支える役目をする。照明系5のみならず、試料4上にそれを切断するために合焦されるレーザ光線7を発生するレーザ6も与えられている。X-Yステージ2は切断線制御装置の役目をし、切断操作の間に、レーザ光線7と試料4との間の相対的運動を生成する。

【0024】描かれている顕微鏡1は、透過光型顕微鏡で、これには照明系5が、X-Yステージ2と試料4の下の、顕微鏡スタンド8上に配置されている。X-Yステージと試料4の上には少なくとも一つの顕微鏡1の対物レンズ9が配置されている。対物レンズ9は、照明系5の光軸とアラインメントされた光軸10を規定する。

【0025】今述べたこの配置では、試料4は透過光照射によって観察される。レーザ切断は、照明系5がX-Yステージ2の上に配置され、少なくとも一つの対物レンズ9がX-Yステージ2の下に配置される、倒立顕微鏡によても実行できる。

【0026】照明系5から放出された光は、下からコンデンサ11を通して、試料保持器3に向けられ、試料4はX-Yステージ2上に配置される。試料4を透過する光は、顕微鏡1の対物レンズ9に到達する。顕微鏡1内では、光はレンズや鏡（描かれていらない）を経由して顕微鏡1の少なくとも一つの接眼レンズ12に送られ、それを通して操作者はX-Yステージ2上に配置された試料を観察することができる。

【0027】顕微鏡1の顕微鏡スタンド8には、光学系13が対物レンズ9の光軸10中に備えられている。光学系13は、例えば、二色性ビームスプリッタにすることができる。更に、光学系13については多重（複数）光学部品を具備することも考えられる。レーザ光線7を数回偏向する必要があるときがその場合である。レーザ光線7の直径を適当な様式で制限できる、絞り14もレーザ光線7中に備えられている。例えば、絞り14は固定絞りとして構成することができる。有利な実施例では、多重（複数）の固定絞り14を回転円盤又は直線スライド上に配置できるので、特別必要な絞り14として、これらの固定絞りの一つを光路中に挿入することができる。レーザ光線7への挿入は、利用者によって手動、又はモータ化された様式で実行できる。

【0028】ここで描いた実施例では、例えば直径がダイヤフラム絞り(diaphragm)用モータ15によって制御される虹彩絞りとして、絞り14が可変絞りとして構成される。絞り用モータ15は計算機16から必要な絞り直径を設定するために必要な制御信号を受け取る。

【0029】更に、顕微鏡1は、切断すべき試料の像を

受け取るカメラ17を備えている。この像は計算機16に接続されているモニタ18上で表示できる。計算機16、カメラ17、及びモニタ18から構成されているこのシステムは、レーザ4を用いて実行される切断操作を観測したり監視したりするために使うことができる。例えば、計算機はレーザパルスを始動しレーザ出力を制御するためにレーザにトリガー信号を伝送することができ、絞りモータ15を作動させ、且つレーザ6の自動焦点調節装置（描かれていない）を作動させる。

【0030】更に、切断すべき試料12の関係がある試料領域はモニター18上で、マウスカーソルを用いてトレース（追跡）できる。ウェブの位置は計算機16中のソフトウェアプログラムによって自動的に決定できる。しかし、利用者がマウスクリックによってもウェブの位置を予め決定できるならば、有利であることが分かる。それによって特徴付けられた切断線に沿って、レーザ4によって切断操作が次に実行される。

【0031】関係がある切断試料領域を集めるための少なくとも一つの収集容器19が試料の下に配置される。

【0032】本発明に従った方法は、以下に図2を参考にして述べられる。

【0033】この図は複数の細胞22を有する試料4のカメラ像を描いている。中に異常な細胞構造24すなわち疑わしい癌細胞、又は関係がある遺伝コードを持つ細胞がある、関係がある試料領域23が試料4のほぼ中心にある。更に検査するため、この関係がある試料領域23は試料4から取り除くことができる。

【0034】そのため、利用者によってカメラ像中に、計算機マウスによって、対応するソフトウェアプログラムを用いて、実行すべき切断操作のための所望の参照切断線の印（マーク）がつけられる。更に、ウェブの所望の位置に印がつけられる。ウェブの幅は利用者によって設定される。しかし、現在のレーザパラメータの関数として、計算機16によってウェブ幅を決定する可能性も存在する。

【0035】レーザ光線7の現在設定された切断幅に対応して、規定された参照切断線に対する試料4上のレーザ光線7の多数の参照位置が計算機16によって計算され、引き続いて配置されるレーザ光線7の参照位置は所望の参照切断線となる。規定されたウェブに対し、排他的に唯一の中心参照位置のみが計算される。

【0036】切断操作の準備をするために、レーザ光線7の狭い切断幅が設定される。切断の間に、レーザ光線7が引き続いて試料4上の計算された参照位置に当たるように、X-Yステージ2はステップ的に変位し、ウェブ26に対する参照位置は最初は省かれる。各参照位置では、夫々のトリガー信号は計算機16によって発生され、レーザ6に送られ、それに対応してレーザパルスは放出される。このようにして、描かれた部分的に閉でない（ウェブの所で不連続な）切断線25がレーザ6を用

いて関心がある試料領域23の回りに生成される。関心がある試料領域23はそのとき安定ウェブ26によってのみ回りの試料4に結合されている。

【0037】ウェブ26の切断（切り離し）を準備するため、レーザ光線7の切断幅がかなり広げられる。例えば、可能な最大の切断幅に設定できる。しかし、ウェブ26を切断するための切断幅がウェブ26の幅に適合されると、有利であることが分かっている。そのため、切断幅は少なくともウェブ26の幅に対応しなければならない。

【0038】方法の最後のステップでは、前記ウェブ26はその中心に向けられたレーザパルスによって切断される。これが単一レーザパルスを用いた切断操作であり、その状況においてはレーザ6は切断線25の前の切断の間と同様に焦点合わせされたままである。このようにして切断分離された関心がある試料領域は、その下に配置された収集容器中に落ちる。

【0039】切断線25に関する切断とウェブ26の切断の両者は合焦レーザ光線7によって達成されるので、両者のステップの間に、関心がある試料領域23がレーザ照射によって起こり得る損傷から保護される。

【0040】図3は、切断の間に静止した試料に対してレーザ光線を動かす、本発明に従った方法を実行するための、本発明に従ったレーザ顕微切断装置を示す。

【0041】このレーザ顕微切断装置は、上に試料保持器3が配置されている変位可能なX-Yステージ2を有する顕微鏡を具備している。切断すべき試料4が試料保持器3の下側に置かれている。照明系5と試料4を照射するコンデンサ11がX-Yステージ2の下に配置されている。切断操作の間に、X-Yステージ2は水平、すなわちXおよびY方向には動かされない。関心がある切断試料領域を集めるために、少なくとも一つの収集容器19が試料4の下に配置される。

【0042】レーザ光線7はレーザ6（本例の場合、UVレーザ）から発せられ、照射光路20に差込入射結合される。レーザ走査装置31は照射光路中に配置される。レーザ光線7はレーザ走査装置31を通過し、光学系13を経由して、レーザ光線7を試料4に合焦する対物レンズ9に到達する。光学系13は二色性ビームスプリッタとして有利に具現化され、それを通して試料4から対物レンズ9に進んでいる映像光路21は少なくとも接眼レンズ12に到達する。

【0043】この実施例においては、レーザ走査装置31の調整（したがって試料4に対するレーザ光線7の変位）は、レーザ走査装置31、制御装置33、及び計算機16と組み合わせてモータ32を用いて達成される。モータ32は、モータ32の作動のための制御信号を供給する制御装置33に接続される。制御装置33は計算機16に接続され、計算機にはモニタ18が接続される。カメラ17によって得られた試料4の像はモニタ1

8上で表示される。所望の参照切断線は、計算機マウス（描かれていない）又は他のカーソル制御装置によって、カメラ像でモニタ18上で規定できる。計算機16は更にレーザ光源6に接続され、切斷が実行されるときのみレーザパルスを始動するために、レーザにトリガ信号を伝送する。

【0044】レーザ走査装置31そのものは、切斷操作の間に、レーザ光線7と試料4の間の相対的な運動を発生する切斷線制御装置の役目をする。レーザ光線7の焦点調節は、同時に目でカメラ像を監視しながら、垂直にX-Yステージを手動で利用者が動かすことによって実行できる。しかし、レーザ光線7のための自動焦点調節装置（描かれていない）を具備する装置の実施例は利用者にとってより使いやすい。

【0045】レーザ走査装置31を作動すると、色々な偏向角でレーザ光線7がレーザ走査装置31の出力に現れる。偏向角を変えることにより、レーザ光線7は、対物レンズ10の視野内にある試料4上の任意の所望の位置に導くことができる。

【0046】第一のステップでは、レーザ走査装置31を適当に作動することによって、レーザ光線7を用いて完全に閉ではない（不完全な）切斷線が試料4上に生成され、安定なウェブ26は後に残る。そのため、狭い切斷幅が前もって設定されなければならない。

【0047】試料中のレーザの切斷幅はレーザパラメータ、例えばレーザ出力やレーザ光線7の開口（数）に依存する。この切斷幅は前もって決定されるか又は計算機16にレーザパラメータの関数として安定に記憶される。現在設定された切斷幅に対応して、規定された参考切斷線について、レーザ光線の多数の参考位置（Sollpositionen）が計算され、引き続いて配置されたレーザ光線7の参考位置が所望の参考切斷線となる。

【0048】次に試料4上において参考位置は、レーザ走査装置31により順次移動される。レーザ走査装置31によって、試料上においてレーザ光線7の参考位置が準備されるか又は設定される度に、計算機16はレーザ光源6において、レーザパルスを始動するためのトリガ信号が供給される。このようにして、開の（即ち閉でない）「不完全な」切斷線が一步一段階的に生成され、安定なウェブが後に残る。

【0049】ウェブの切斷のための準備として、次にレーザ光線7の切斷幅がはるかに広く設定される。しかし、切斷幅はウェブの幅に少なくとも対応しなければならない。レーザ光線7はこの第二のステップでも同様に焦点調節したままでなければならない。ウェブを切斷分離するために单一のレーザパルスのみが発生され、单時間発生されたレーザ光線7は好ましくはウェブの中心に向けられる。

【0050】ウェブが分離切斷された後、関心がある試料領域は完全に試料から分離され、重力の作用で、試料

の下に配置された収集容器中に落ちる。

【0051】本発明は典型的な実施例に関して説明した。それにもかかわらず、詳細に記述した請求項の保護の範囲から離れることなく、変形や変更を行うことができることは、いかなる当業者にとっても明白である。

【0052】

【発明の効果】本発明の方法又は装置により、夫々の視点において、信頼性があり、便利な様式で、即ち、度重なる合焦操作をすることなく、試料から目的試料部分を切り取るレーザ顕微切斷が実現される。各従属請求項の特徴により、上述のとおり夫々付加的な利点がさらに達成される。

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は定常レーザ光線によるレーザ切斷のための装置を示す。

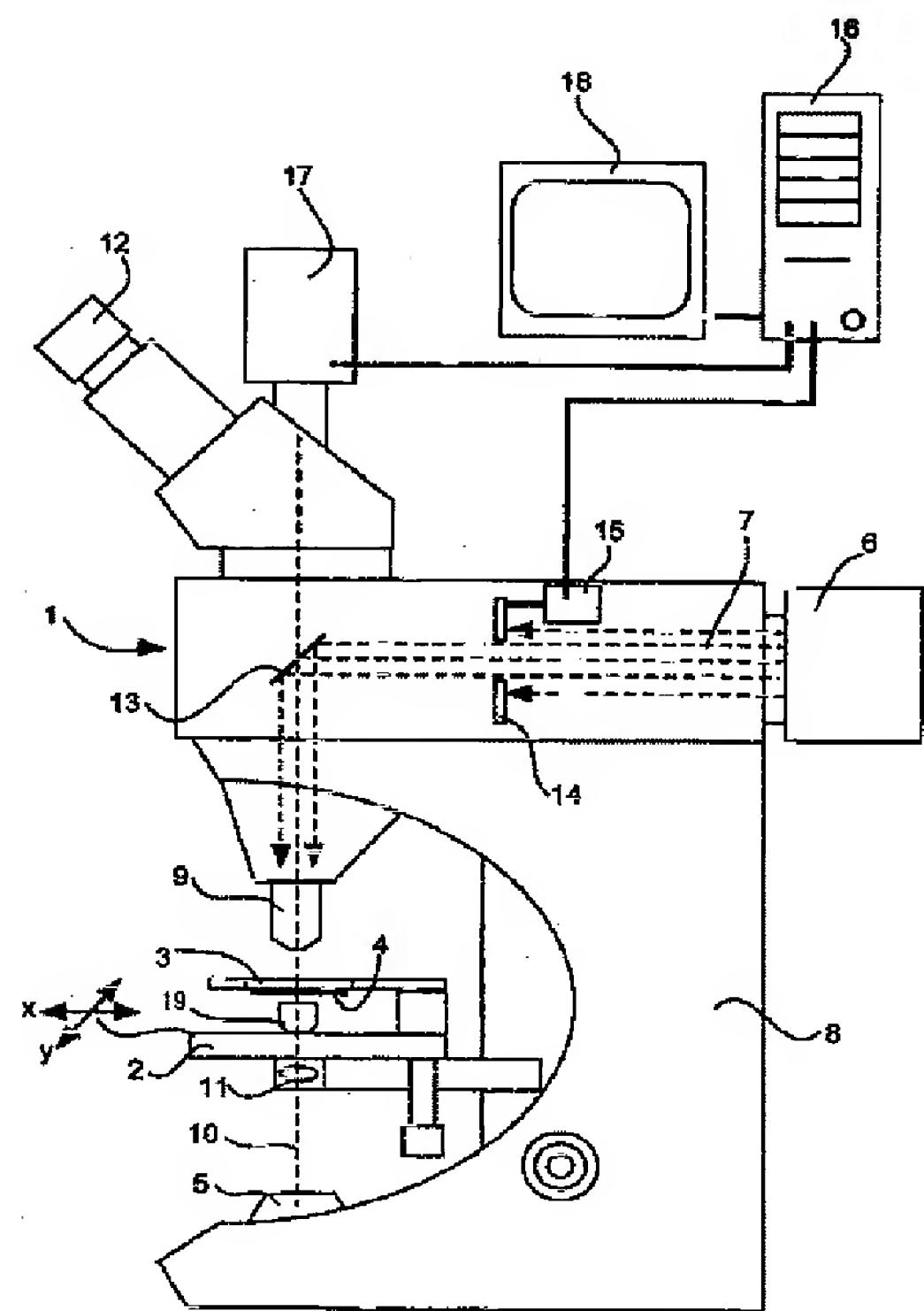
【図2】図2は関心がある試料領域の回りの本発明に従った切斷側面を持つ試料を示す。

【図3】図3は可動レーザ光線によるレーザ切斷のための装置を示す。

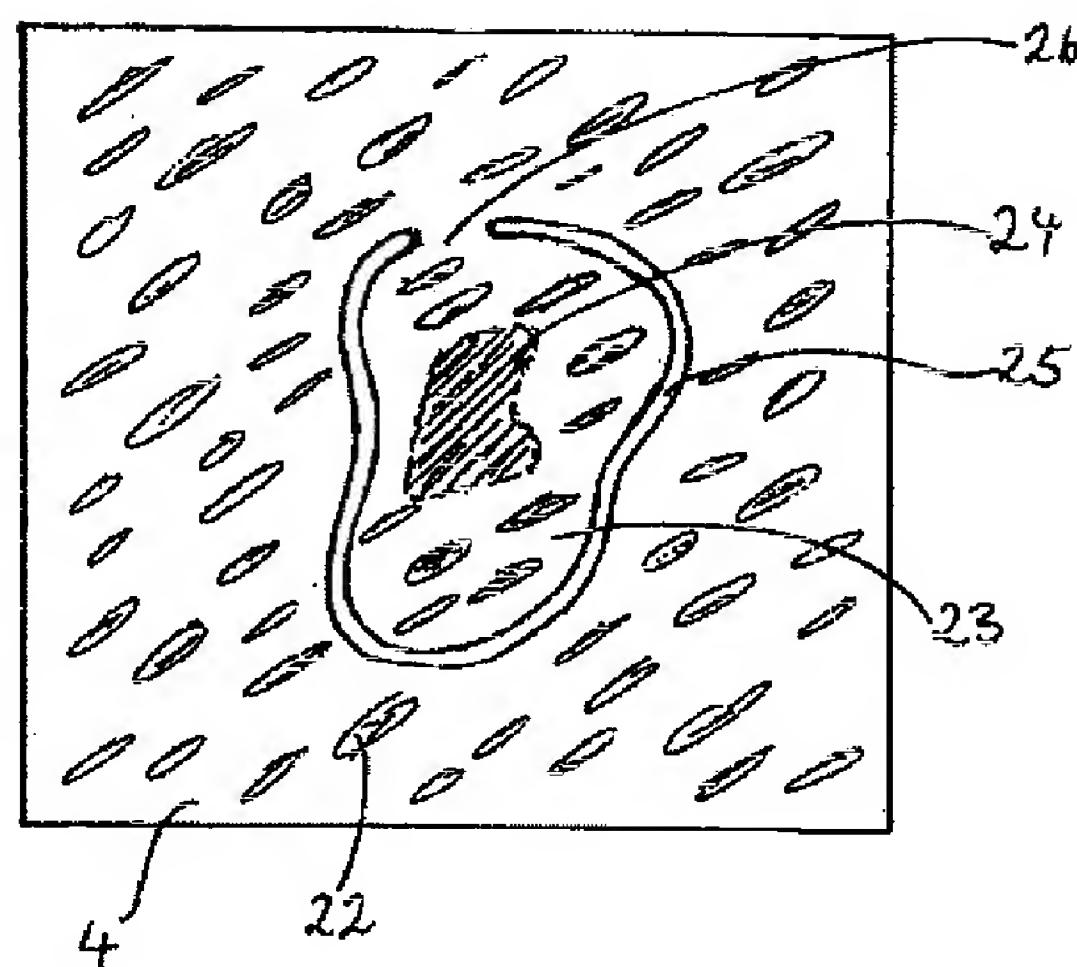
【符号の説明】

- 1 顕微鏡
- 2 可変X-Yステージ
- 3 試料保持器
- 4 試料
- 5 照明系
- 6 レーザ
- 7 レーザ光
- 8 顕微鏡スタンド
- 9 対物レンズ
- 10 光軸
- 11 コンデンサ（集光レンズ）
- 12 接眼レンズ
- 13 光学系
- 14 絞り
- 15 絞り用モータ
- 16 計算機
- 17 カメラ
- 18 監視テレビ
- 19 収集容器
- 20 照射用光路
- 21 映像用光路
- 22 細胞
- 23 関心試料領域
- 24 異常細胞構造
- 25 切断腺
- 26 ウェブ
- 31 レーザ走査装置
- 32 レーザ走査装置用モータ
- 33 制御装置

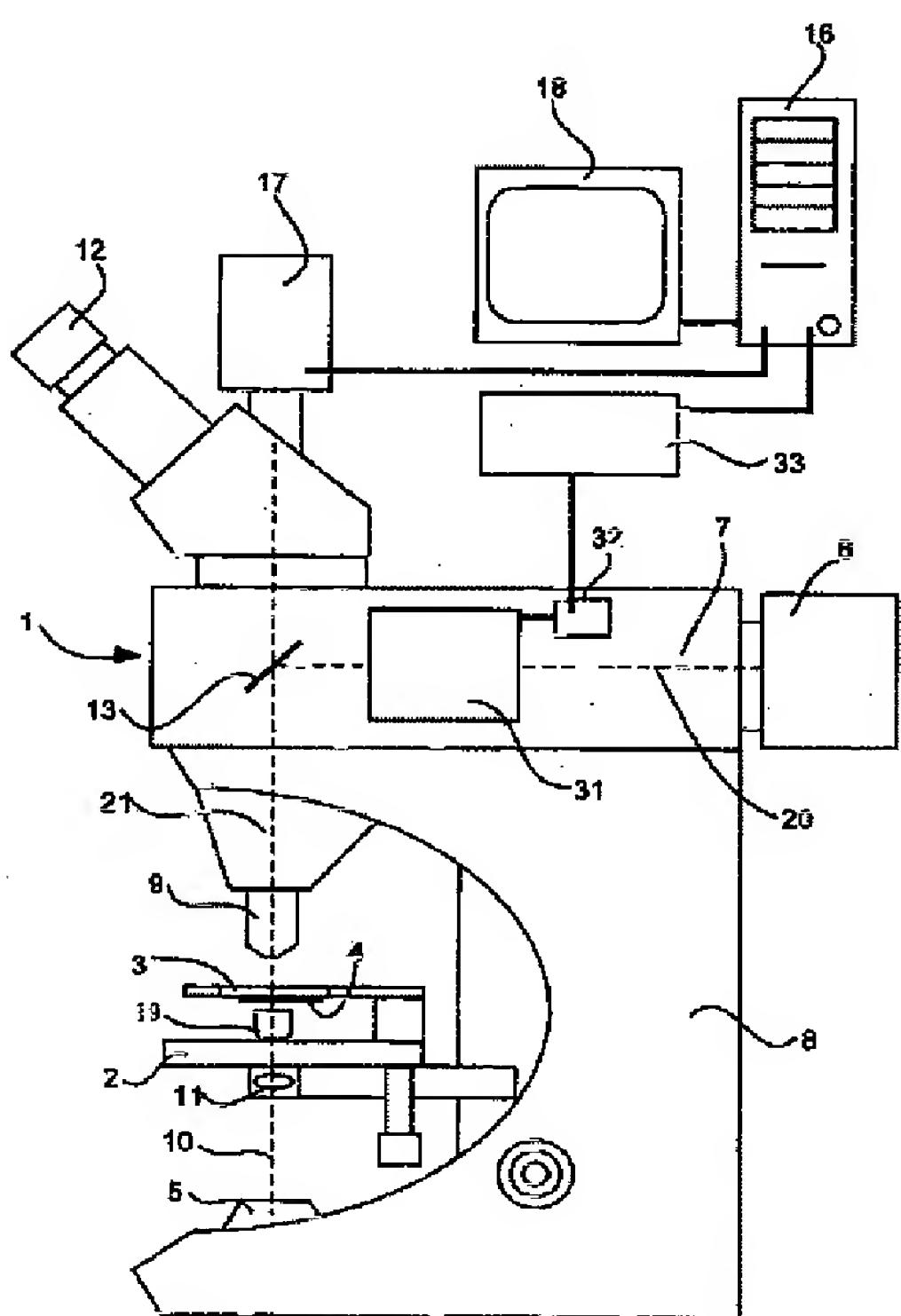
【図1】



【図2】



【図3】



フロントページの続き

(72)発明者 アルブレヒト ヴァイス
ドイツ連邦共和国 D-35440 リンデン
シラーシュトラーセ 18
(72)発明者 イエヒム ヴェズナー
ドイツ連邦共和国 D-65934 フランク
フルト/マイン コフェントリーシュトラ
ーセ 34

(72)発明者 ゲルハルト ヨハンセン
ドイツ連邦共和国 D-35435 ヴェッテ
ンベルク シッフェンベルガー ヴェーク
10
F ターム(参考) 2G052 AA28 AD32 BA02 EC17 GA31
JA07
2H052 AC04 AC05 AC15 AC34 AD16
AF01
4E068 AE00 CA17 CB02